

微量 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

微量 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 3102005	50 次制备 3102050	250 次制备 3102250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
1.5 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml	1.2 ml \times 5
Carrier RNA	40 μ l	300 μ l	300 μ l \times 5
Buffer AT	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer SL	2 ml	15 ml	75 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	12 ml	60 ml
Buffer WB (浓缩液)	1.5 ml	10 ml	50 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液和 Carrier RNA 请置于 -20°C 储存, 其他试剂与物品储存于常温(0~30°C), 可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部: e-mail: technical@simgen.cn, 电话: 400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从微量的人或动物组织中分离纯化总 DNA (包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA)。动物组织经蛋白酶 K 消化后 DNA 将结合到纯化柱上, 降解的蛋白与 PCR 抑制物则过滤除去, DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后, 用 Buffer TE 洗脱, 即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)
6. 恒温混匀器、摇床或水浴锅和旋涡振荡器
7. 可能需要 1 M DTT (Cat. No. 9032001)
8. 可能需要研磨棒 (Cat. No. D-050)



扫二维码观看操作视频

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能, 请将温度设置到 25°C。
2. 将水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C, 将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C。
注意: 当室温低于 15°C 时, Buffer AT 可能会有沉淀析出, 温育后请仔细观察沉淀是否完全溶解, 并颠倒混匀后再使用。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇, 并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

A. 干的血迹：

取 1~3 片直径为 3 mm 的血迹，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

B. 烟头：

从烟头或是烟头的过滤嘴处剥离 1 cm^2 外层纸片，剪成碎片，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 250 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

C. 发根

取发根 0.5~1 cm 处的片段，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT、20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1 M DTT。

D. 头发

将头发剪成 0.5~1 cm 的片段，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT、20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1 M DTT。

E. 指甲碎屑

将指甲碎屑切成小颗粒，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT、20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1 M DTT。

F. 含血液、唾液、精液污渍的衣物

剪取约 0.5 cm^2 沾有污渍的部分，剪碎，放入一个 1.5 ml 离心管中，加入 250 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液（如果沾有精液，应再加入 15 μ l 1 M DTT）。

G. 血清或血浆

取 100~200 μ l 血清或血浆到一个 1.5 ml 离心管中（若不足 200 μ l，则补加生理盐水到 200 μ l），加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

H. 微量血液（红细胞无核血液）

取 1~100 μ l 红细胞无核血液到一个 1.5 ml 离心管中，加入 Buffer AT 使总体积到 180 μ l，加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

I. 微量组织

取不超过 10 mg 的组织到一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

J. 节肢动物（昆虫等）

取不超过 50 mg 的样品到一个 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，用研磨棒将样品的外骨骼研碎。

2. 旋涡振荡混匀，恒温混匀器或摇床中 56°C，900 rpm 温育 1 小时。

* 如果使用水浴，应每隔 10 分钟旋涡振荡一次以帮助溶解。

* 血液、血清或血浆可减少水浴时间至 10 分钟；组织样品若观察到已经完全消化，可提前进入下一步操作。

* 毛发、指甲等不易溶解的标本可适当延长水浴时间（如过夜消化）直至其全部溶解。

3. 加入 5 μ l Carrier RNA 和 250 μ l Buffer SL，旋涡振荡约 15 秒混匀。在恒温混匀器或摇床中 70°C，900 rpm 温育 10 分钟。

4. 14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

5. 吸取 400 μ l 上清液转移到另一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 320 μ l 无水乙醇，旋涡振荡混匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。

6. 吸取步骤 5 中的溶液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

7. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸上倒扣拍击一次。

8. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

9. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

10. 弃 2 ml 收集管，将核酸纯化柱置于 1.5 ml 收集管中，在纯化柱中加入 25~50 μ l 56°C 温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果所加 Buffer TE 的体积小于 25 μ l，则洗脱的 DNA 浓度可能不再增加。

11. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。